Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. R. -E. Bader

Über den Vergleich serologischer Rheumareaktionen mit Reagenzien verschiedener Herkunft

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Stefan Medved
aus Göppingen

1964

7689

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. R. -E. Bader

Über den Vergleich serologischer Rheumareaktionen mit Reagenzien verschiedener Herkunft

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Stefan Medved
aus Göppingen

1964

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. R. -E. Bader

Über den Vergleich serologischer Rheumareaktionen mit Reagenzien verschiedener Herkunft

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Stefan Medved
aus Göppingen

1964

Dekan: Prof. Dr. Dr. E. Fröhlich

Berichterstatter: Prof. Dr. R. -E. Bader

Fotodruck PRÄZIS · Tübingen

INHALT

I. Einleitung

II. Die Antistreptolysinreaktion

1. Einleitung

2. Reagenzien B
   a) Material
   b) Methodik

3. Reagenzien H
   a) Material
   b) Methodik

4. Ergebnisse

III. Bestimmung des Rheumafaktors

1. Einleitung

2. Reagenzien H und B
   a) Material
   b) Methodik

3. Ergebnisse

IV. Besprechung der Ergebnisse

V. Zusammenfassung

Literatur

Lebenslauf

ÜBER DEN VERGLEICH SEROLOGISCHER RHEUMAREAKTIONEN MIT REAGENZIEN VERSCHIEDENER HERKUNFT

I. EINLEITUNG

Am Hygiene-Institut der Universität Tübingen wurden für die Antistreptolysinreaktion während mehrerer Monate die Reagenzien einschließlich des Standardserums einer bestimmten Firma verwendet. Die damit erzielten Resultate standen jedoch häufig in Widerspruch zu den klinischen Beobachtungen. Es mußte deshalb geprüft werden, ob der Gebrauch von Reagenzien anderer Herkunft gleiche oder abweichende Resultate liefere. In der Folgezeit wurde deshalb eine Serie von Antistreptolysinreaktionen gleichzeitig mit den Reagenzien beider Firmen durchgeführt.
In den Vergleich einbezogen wurden die Reagenzien zur Bestimmung des Rheumafaktors. Die erzielten Resultate bilden den Inhalt dieser Arbeit.

II. DIE ANTISTREPTOLYSINREAKTION

1. EINLEITUNG

Die Antistreptolysinreaktion ist im Rahmen der serologischen Untersuchungen aus der heutigen Rheumadiagnostik nicht mehr wegzudenken. Sie ist eine standardisierte Reaktion, bei der die hämolysehemmende Kraft eines Patientenserums mit der eines Standardserums, eines Serums mit bekanntem Antistreptolysingehalt, verglichen wird.

2. REAGENZIEN B

a) Material

Mit den Reagenzien B wurde nach der Methode von Kalbak (1942) in der Modifikation von Scheiffarth und Legler (1951) gearbeitet.
Die verwendeten menschlichen Seren wurden vor Gebrauch 1/2 Stunde bei 56°C inaktiviert. Sie wurden aus Venenblut, das zur Untersuchung auf Antistreptolysin eingesandt worden war, durch 10 Minuten langes Zentrifugieren bei 2000 U/Minute gewonnen und entweder sofort benutzt oder bis zur Verwendung bei 4°C gelagert.
Das zur Verfügung stehende Standard-Human-Anstistreptolysinserum wurde nicht inaktiviert.
Zur Verdünnung der Seren wurde folgende Pufferlösung verwendet:

7,2 g KH_2PO_4, 38 g Na_2HPO_4, 2 H_2O sowie 24 g NaCL
in 1 Liter Wasser gelöst.

Das zum Versuch gebrauchte Hammelblut wurde mittels Halsvenenpunktion gewonnen. Es wurde mit Glasperlen defibriniert.
Die Erythrozyten wurden dreimal mit Pufferlösung gewaschen, dabei jeweils 10 Minuten lang bei 2000 U/min. zentrifugiert, 2 %ig in der Pufferlösung suspendiert und bis zum Gebrauch bei 4°C gelagert.
Als Antigen wurde das Streptolysin-O-Reagenz in Form eines hochgereinigten lyophilisierten Trockenstreptolysins verwendet. Es enthält pro Fläschchen 200 Einheiten Streptolysin O.
In dieser Form ist es, im Kühlschrank bei + 4 - 6°C aufbewahrt, 2 Jahre lang haltbar. Nach Herstellung der Stammlösung und nach Aktivierung mit Natriumthioglycolat ist es sofort zu verbrauchen. Durch Vergleich mit einer mit Antistreptolysin-Standardserum B durchgeführten Reaktion ist es möglich, den Antistreptolysingehalt in Patientenseren in Einheiten zu bestimmen.
Zur Aktivierung des Streptolysin O ist Natriumthioglycolat notwendig, das mitgeliefert wird.

b) Methodik

Vor dem Hauptversuch wurde ein Vorversuch angestellt, um die geringste lösende Dosis Streptolysin, d.h. die Menge Streptolysin zu bestimmen, die 0,2 ml einer 2 %igen Hammelerythrozytensuspension innerhalb von 30 Minuten bei 37°C zu hämolysieren vermag. Die dazu benötigte reduzierte Streptolysinlösung wurde wie folgt hergestellt:
Der Inhalt eines Fläschchens mit 200 Einheiten Streptolysin O wurde in 5 ml Puffer aufgelöst, in einen Meßzylinder eingebracht und nochmals mit 5 ml

Puffer nachgespült. Dazu kamen auf je ein Fläschchen Streptolysin O zwei Ampullen Natriumthioglycolat zu je 2,5 ml sowie 10,0 ml Puffer. Der Inhalt eines Fläschchens wurde demnach in insgesamt 25 ml Flüssigkeit gelöst. Die reduzierte Streptolysinlösung muß 10 Minuten reifen.

Beim Vorversuch wurde in 5 Röhrchen mit fallenden Mengen reduzierter Streptolysinlösung (0,25; 0,20; 0,15; 0,10; 0,05 ml) physiologische NaCl-Lösung in steigenden Mengen gegeben (0,25; 0,30; 0,35; 0,40; 0,45 ml), dazu in jedes Röhrchen 0,5 ml Pufferlösung und 0,25 ml 2 %ige Hammelerythrozytensuspension.

Der Ansatz wurde 10 Minuten lang im Wasserbad bei 37°C gehalten. Anschließend wurde das Röhrchen mit eingetretener kompletter Hämolyse ermittelt. Für den Hauptversuch wurde die 2 1/2-fache Streptolysinmenge verwendet, die im Vorversuch komplette Hämolyse ergab.

Für den Hauptversuch wurde mit jedem inaktivierten Serum eine fallende Serumverdünnungsreihe mit den Stufen 1:50, 1:75, 1:100, 1:150, 1:200, 1:300, 1:400, 1:600 hergestellt.

Aus dem Standardserum B wurden wie oben beschrieben Verdünnungsreihen hergestellt, beginnend mit der Verdünnung 1:6,25; 1:9,375; 1:12,5; 1:18,75; 1:25,0; 1:37,5; usw.

Die reduzierte Streptolysinlösung, deren Herstellung oben beschrieben worden war, wurde nun so stark verdünnt, daß in 0,5 ml die 2 1/2-fache Menge des Streptolysin O enthalten war, die im Vorversuch die Erythrozyten noch auflöste. Von dieser reduzierten Streptolysinlösung wurden mit einem Pipettiergerät in jedes Glas 0,5 ml gegeben. Nach 25 Minuten langem Aufenhalt im Wasserbald von 37°C wurde in jedes Röhrchen 0,25 ml Hammelerythrozytensuspension gegeben und die Mischung noch einmal für 45 Minuten in ein Wasserbad von 37°C gestellt. Danach wurde die Serumverdünnung abgelesen, bei der die Hämolyse begann.

Die Antistreptolysinwerte der Patientenseren wurden nach folgender Formel berechnet:

$$X = \frac{P \times 10}{St};$$

in dieser Formel bedeuten

X = der unbekannte Antistreptolysingehalt des Patientenserums in Einheiten.

P = Verdünnung des Patientenserums, bei der die Hämolyse begann.

St = Verdünnung des Standardserums, bei der die Hämolyse begann.

Folgendes Beispiel soll die Ausrechnung verdeutlichen:

Es fand sich der Beginn der Hämolyse im Standardserum bei einer Verdünnung von 1:25;

sowie der Beginn der Hämolyse im Patientenserum bei einer Verdünnung von 1:400.

Es ergibt sich daraus nach der Formel $X = \frac{P \cdot 10}{ST} = \frac{400 \cdot 10}{25} = 160$ E/ml.

3. REAGENZIEN H

a) Material

Die Patientenseren wurden wie bei B 1/2 Stunde lang bei 56°C inaktiviert.
Die Pufferlösung wurde in 40 ml Plastikflaschen geliefert und anschließend 1:25 verdünnt.
Von Kaninchenerythrozyten wurde mit Pufferlösung eine 5 %ige Suspension nach dreimaligem Auswaschen in 0,9 %iger NaCl-Lösung hergestellt.
Das als Antigen benützte Streptolysin-O-Reagenz ist lyophil getrocknet. Es wird mit destilliertem Wasser aufgelöst und muß nicht aktiviert werden.
Das standardisierte Anti-Streptolysin O ist ebenfalls lyophilisiert und wird vor Gebrauch in destilliertem Wasser aufgelöst.

Serumverdünnung	1 : 10		1 : 100					1 : 500					Ery-kontr.	SL-O Kontr.
Reagenzgläser	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Hinzufügende Serumverdünnung in ml	0,4	0,1	0,5	0,4	0,3	0,2	0,15	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0	0
Pufferlösung in ml	0,1	0,4	0	0,1	0,2	0,3	0,35	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,75	0,5
Streptolysin-O in ml	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Erythrozytensuspension in ml	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25

Tabelle 1. Hauptversuch zur Bestimmung des Antistreptolysins mit dem Reagenz H

b) Methodik

Die Patientenserumverdünnungen 1:10 (0,5 Serum + 4,5 ml konzentrierte Pufferlösung), 1:100 (1 ml Serum 1:10 verdünnt + 9 ml Pufferlösung) und 1:500 (1 ml Serum verdünnt 1:100 + 4 ml Puffer) wurden in einer Nebenreihe hergestellt. Daraus wurden in die Röhrchen 1 - 12 die in der Tabelle 1 angegebenen Mengen einpipettiert. Anschließend wurden die Röhrchen 1 - 12 mit Pufferlösung auf 0,5 ml Inhalt gebracht. Nach Schütteln wurde Streptolysin-O in einer Menge von je 0,25 ml in alle Reagenzgläser gegeben. Es wurde erneut geschüttelt und der Ansatz 15 Minuten lang bei 37°C ins Wasserbad gestellt. Anschließend wurden jeweils 0,25 ml 5 %ige Kaninchenerythrozytensuspension zugegeben, geschüttelt und die Ständer 45 Minuten lang bei 37°C ins Wasserbad gestellt. Nach einer Inkubation von 15 Minuten wurden die Reagenzgläser erneut durchgeschüttelt. Am Ende der Gesamtinkubationszeit von 45 Minuten wurde eine Minute lang bei 1500 U/min. zentrifugiert. Danach wurden diejenigen Verdünnungen der einzelnen Patientenseren abgelesen, die noch keine Hämolyse aufwiesen.
Vom Standardserum, das 166 Einheiten enthält, wurden nach derselben Methode wie bei den Patientenseren die Verdünnungen 1:125, 1:166, 1:250 sowie 1:333 in die Röhrchen 3 - 7 einpipettiert. Der Inhalt der Röhrchen 3, 4 und 5 soll ungelöst bleiben, d.h. komplette Neutralisation des Streptolysin O zeigen. Eine Hämolyse muß bei Röhrchen 6 und 7 eintreten. Das Standardserum dient hier vor allem zur Arbeitskontrolle im Gegensatz zur Methode B, wo es durch den Vergleich seiner hämolysehemmenden Eigenschaft mit der der entsprechenden Patientenserumverdünnungen die entscheidende Rolle spielt. Die in der Tabelle 1 angegebenen Röhrchen 13 bzw. 14 dienen zur Erythrozyten- und Streptolysinkontrolle.

4. ERGEBNISSE

Untersucht wurden 364 inaktivierte Patientenseren mit den Reagenzien H und B. Die Zusammenstellung der Ergebnisse der Tabelle 2 erfolgte auf Grund einer Titerbewertung nach Kalbak (1951), der 200 Antistreptolysineinheiten als obere Grenze des Normalen annimmt. Titer bis zu 200 Antistreptolysineinheiten sind deshalb als negativ bezeichnet, Titer über 200 Antistreptolysineinheiten dagegen diagnostisch im positiven Sinne bewertbar und in Tabelle 2 als positiv eingetragen.
Die statistische Beurteilung der Häufigkeiten in den Tabellen 2 - 5 erfolgte nach Koller (1943).

H	B	Anzahl	%	Über-einstimmung	Nichtüber-einstimmung
negativ	negativ	126	34,6 +8,2 -7,4	211=57,9% +7,8 -8,2	
positiv	positiv	85	23,4 +7,2 -5,6		
positiv	negativ	34	9,3 +5,5 -4,1		153=42,9% +8,2 -7,8
negativ	positiv	119	32,6 +8,0 -7,2		
		364	100,0		

Tabelle 2. Bestimmung des Antistreptolysins mit Reagenzien H und B. Grenztiter 200 Antistreptolysineinheiten.

Bei 365 untersuchten Patientenseren fanden sich übereinstimmende Resultate in 211 Fällen (57,9 %). In 153 Fällen (42,1 %) ergaben sich abweichende Resultate, wobei 34 Seren (9,3 %) nur mit den Reagenzien H und 119 Seren (32,6 %) nur mit den Reagenzien B positiv reagierten.
Der Prozentsatz der in ihrem Reaktionsausfall divergenten Seren ist mit 42,1 % sehr hoch. Es wurden deshalb für eine zweite Gegenüberstellung nach Köhler (1958) 250 Antistreptolysineinheiten als Grenztiter gewählt.

H	B	Anzahl	%	Über-einstimmung	Nichtüber-einstimmung
negativ	negativ	183	50,3 +8,1 -8,1	241=66,2% +7,3 -8,05	
positiv	positiv	58	15,1 +6,7 -5,4		
positiv	negativ	32	8,7 +5,45 -3,95		123=33,7% +8,0 -7,3
negativ	positiv	91	25,9 +7,65 -6,6		
		364	100,0		

Tabelle 3. Bestimmung des Antistreptolysins mit Reagenzien H und B. Grenztiter 250 Antistreptolysineinheiten.

Wie die Zusammenstellung zeigt, erhöht sich damit die Zahl der übereinstimmenden Ergebnisse auf 241 Beobachtungen (66,2 %). Die Anzahl der abweichenden Ergebnisse beträgt jedoch immer noch 123 (33,7 %).
Folgt man der Ansicht von Lagercrantz (1951), der 320 Antistreptolysineinheiten als obere Grenze des Normalen ansieht, so ergeben sich die in der Tabelle 4 niedergelegten Ergebnisse:

H	B	Anzahl	%	Über-einstimmung	Nichtüber-einstimmung
negativ	negativ	229	62,9 +7,4 -8,2	276=75,8% +6,4 -7,5	
positiv	positiv	47	12,9 +6,2 -4,9		
positiv	negativ	39	10,8 +5,7 -4,3		88=24,2% +7,5 -6,4
negativ	positiv	49	13,4 +6,3 -4,6		
		364	100,0		

Tabelle 4. Bestimmung des Antistreptolysins mit Reagenzien H und B. Grenztiter 320 Antistreptolysineinheiten.

Abschließend wurde noch geprüft, welche Resultate sich ergeben, wenn nach Böni (1961) und Hamburger (1953) verfahren wird, die bereits 150 Antistreptolysineinheiten als erhöht ansehen. Die Danach errechneten Werte sind in Tabelle 5 zusammengefaßt:

H	B	Anzahl	%	Über-einstimmung	Nichtüber-einstimmung
negativ	negativ	81	22,2 +7,4 -6,2	223=61,4% +7,6 -8,1	
positiv	positiv	142	39,2 +8,25 -7,6		
positiv	negativ	41	11,2 +5,8 -4,4		141=38,6% +8,15 -7,6
negativ	positiv	100	27,4 +7,7 -6,7		
		364	100,0		

Tabelle 5. Bestimmung des Antistreptolysins mit Reagenzien H und B. Grenztiter 150 Antistreptolysineinheiten.

III. BESTIMMUNG DES RHEUMAFAKTORS

1. EINLEITUNG

Der von Waaler (1940) entdeckte Rheumafaktor spielt in klinischer Hinsicht sowohl bei der Diagnose der primär chronischen Polyarthritis, bei der er in hohem Prozentsatz nachgewiesen wurde, als auch bei ihrer Unterscheidung von anderen chronischen Gelenkerkrankungen eine wichtige Rolle. Es handelt sich um ein zur Gamma-Globulinfraktion gehördendes Makromolekül mit der Sedimentationskonstante S = 19 (Franklin, 1962), das im Serum von Patienten mit rheumatischer Arthritis vorkommt. Der Nachweis beruht vor allem auf der Eigenschaft dieses Serumbestandteils, mit menschlichem und tierischem Gamma-Globulin zu reagieren.

Singer (1956) machte Agglutinationsversuche an Gamma-Globulin-beladenen Latexpartikeln mit Rheumatikerseren und entwickelte daraus den Latex-Fixationstest, einen der meist gebräuchlichen Methoden zum Nachweis des Rheumafaktors. Die mit Gamma-Globulin beladenen Latexpartikelchen von einheitlicher Größe ergeben mit Rheumafaktor enthaltenden Patientenseren eine makro-

skopisch nachweisbare Agglutination der Latexpartikel durch die Reaktion des Rheumafaktors mit den an die Latexpartikelchen adsorbierten Gamma-Globulinen.
Für den dieser Arbeit zugrunde liegenden Vergleich wurde wiederum mit den Reagenzien B und H gearbeitet, deren wichtigster Bestandteil die sofort verwendungsfähigen Latex-Gamma-Globulin Komplexe sind.

2. REAGENZIEN H UND B

a) Material

Zur Untersuchung wurden aktive Seren verwendet. Die zur Verdünnung der Seren erforderliche Pufferlösung besteht bei den Reagenzien H aus einer Glyzine-Saline-Pufferlösung und wird gebrauchsfertig geliefert. Bei den Reagenzien B wird eine Glykokoll-NaCl-Pufferlösung von ph 8,2 verwendet, die ebenfalls gebrauchsfertig mitgeliefert wird. Beide Pufferlösungen sollen bei + 2 - 4°C aufbewahrt werden.
Latex-Globulin-Reagenz H in 5 ml Tropfflaschen, blaugrün gefärbt, sowie Latex-Rheumafaktor-Reagenz B in Tropfflaschen mit 2 ml Inhalt sind die zur Bestimmung des Rheumafaktors notwendigen Reagenzien. Ihre Wirksamkeit wird mittels eines positiven und eines negativen Kontrollserums geprüft. Fernerhin benötigt werden Spezialobjektträger, die in 6 blau umrandete Rechtecke unterteilt sind.

b) Methodik

Die Technik der Ausführung war bei den Reagenzien B und H gleich. Zunächst wurden die zu untersuchenden Patientenseren 1:20 mit Pufferlösungen H bzw. B wie folgt verdünnt:
Mit einer 10 ml Pipette wurde 1 ml Puffer in Reagenzgläser vorgelegt und ein Tropfen Patientenserum, der etwa 0,05 ml entspricht, hinzugegeben und gut gemischt.
Ein Tropfen dieser Serumverdünnung sowie je ein Tropfen eines in gleicher Weise verdünnten negativen und positiven Kontrollserum wurden auf je ein Feld des Spezialobjektträgers getropft, dazu aus der Tropfflasche je ein Tropfen Latex-Reagenz hinzugegeben, mit einem Holzstäbchen gut gemischt und auf eine Fläche von etwa 20 x 25 mm gleichmäßig verteilt. Der Objektträger wurde dabei um seine Längs- und Querachse gekippt, wobei darauf geachtet wurde, daß die einzelnen Tropfen nicht über den Rand hinausflossen.

Die Ablesung und der Vergleich mit den positiven und negativen Seren erfolgten anschließend. Wenn der Rheumafaktor im Serum vorhanden war, konnte die auftretende Agglutination schon nach 1 - 3 Minuten beobachtet werden; spätere Ablesung ist wegen des Auftretens unspezifischer Reaktionen zu vermeiden.
Bei negativen Patientenseren bleibt die Suspension homogen. Die gleichmäßige Trübung läßt den Untergrund des Objektträgers nicht mehr erkennen und zeigt das gleiche Bild wie das des negativen Kontrollserums.
Im Falle einer positiven Reaktion tritt eine makroskopisch sichtbare Agglutination der Latexpartikelchen ein, die aber verschieden stark ausgeprägt ist. Kam es nur zu feinen Zusammenballungen, so wurde die Probe als schwach positiv bewertet (+). Entstand dagegen eine grobe Ausflockung, die den Objektträgeruntergrund sichtbar werden ließ, so handelte es sich um positive oder stark positive Resultate (++ oder +++).

3. ERGEBNISSE

Mit den Reagenzien H und B wurden mit der beschriebenen Technik 362 aktive Patientenseren auf das Vorhandensein des Rheumafaktors untersucht.
In Tabelle 6 sind die Versuchsergebnisse zusammengestellt, wobei in der ersten Reihe die Anzahl der mit beiden Reagenzien negativen Resultate, in der zweiten Reihe die der positiven Ergebnisse aufgeführt wurde. In den beiden letzten Reihen sind die Fälle zusammengestellt, die diskordante Ergebnisse aufwiesen.

H	B	Anzahl	%	Über-einstimmung	Nichtüber-einstimmung
negativ	negativ	187	51,6 +8,0 -8,0	228=62,9% +7,4 -8,2	
positiv	positiv	41	11,3 +5,7 -4,4		
positiv	negativ	133	36,8 +8,1 -7,4		134=37,1% +8,2 -7,4
negativ	positiv	1	0,3 +2,3 -0,15		
		362	100,0		

Tabelle 6. Bestimmung des Rheumafaktors mit den Reagenzien H und B. Schwach positive Proben = positiv.

Bei 362 Patientenseren, die mit den Reagenzien H und B untersucht wurden, fand sich eine Übereinstimmung der Resultate in 228 Fällen (62,9 %). Diese Übereinstimmung verteilte sich auf 187 Fälle im negativen Bereich (51,6 %) und auf weitere 41 Fälle (11,3 %), wo beide Reagenzien positiv reagierten. In 134 Proben ergaben sich diskordante Ergebnisse (37,1 %), indem sich Reagenz H positiv und Reagenz B negativ verhielten. Der umgekehrte Fall trat nur einmal auf (0,3 %).

Der Prozentsatz der nicht übereinstimmenden Reaktionsfälle ist mit über 37 % erstaunlich hoch. Da mit der Möglichkeit einer zu scharfen Ablesung der Resultate zu rechnen war, wurden deshalb für einen weiteren Vergleich die schwach positiven Proben als negativ bewertet. Dabei ergaben sich die in Tabelle 7 zusammengefaßten Befunde. Es zeigt sich nunmehr, daß die Zahl der insgesamt übereinstimmenden Resultate auf 83 % anstieg und der Prozentsatz der abweichenden Ergebnisse auf 17 % abfiel.

H	B	Anzahl	%	Über-einstimmung	Nichtüber-einstimmung
negativ	negativ	276	76,2 +6,5 -7,5	299=82,2 +5,7 -7,0	
positiv	positiv	23	6,0 +4,7 -3,3		
positiv	negativ	62	17,5 +6,8 -5,5		63=17,8% +7,0 -5,7
negativ	positiv	1	0,3 +2,3 -0,15		
		362	100,0		

Tabelle 7. Bestimmung des Rheumafaktors mit den Reagenzien H und B. Schwach positive Proben = negativ.

IV. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

1. ANTISTREPTOLYSINREAKTION

Wie die Erfahrungen der letzten Jahre zeigen, gewinnt die Antistreptolysinreaktion eine immer größere Bedeutung. Dies spiegelt sich besonders in der ansteigenden Zahl der zur Untersuchung an die Laboratorien eingesandten Seren wider. Andererseits besteht noch wenig Übereinkunft, welche Antistreptolysintiter für die klinische Bewertung eines Patienten zu vernachlässigen und welche Titer bewertbar sind. Dieser Frage wurde gemäß der Thematik der vorliegenden Arbeit nicht nachgegangen.
Umso wichtiger schien es, die auf Grund eigener Erfahrungen aufgetauchte Frage zu klären, wie weit durch die Verwendung von Reagenzien verschiedener Herkunft weitere Schwierigkeiten für die Beurteilung des Reaktionsergebnisses entstehen.

Die im Rahmen von insgesamt 364 Untersuchungen mit dem Vergleich von zwei Reagenziengruppen gemachten Erfahrungen waren wenig ermutigend. Je nachdem, ob die Grenze für die positive Bewertung der Antistreptolysinreaktion bei 200, 250, 320 oder 150 Antistreptolysineinheiten angenommen wird, finden sich in 58 %, 66 %, 76 % bzw. 61 % übereinstimmende Resultate.

2. RHEUMAFAKTOR

Ähnliche Erfahrungen wie bei der Antistreptolysinreaktion wurden auch bei der Bestimmung des Rheumafaktors bei Heranziehung verschiedener Reagenzien gemacht. Je nach Bewertung der schwach positiven Reaktionsausfälle als positiv oder als negativ ergab sich eine Übereinstimmung der Ergebnisse in 63 % bzw. in 82 %.

3. Insgesamt zeigen die vorliegenden vergleichenden Untersuchungen, daß zu der oben erwähnten Schwierigkeit der Bewertung verschiedener Reaktionsstärken noch ein Unsicherheitsfaktor hinzukommt, der vom Untersucher unabhängig nur durch die Wahl der Reagenzien bedingt ist.
Wenn es schon schwierig ist, Maßstäbe für die Bewertung des Reaktionsausfalles bei Verwendung ein und desselben Reagenz zu finden, so wird es fast unmöglich, Resultate zu vergleichen, die mit den verwendeten verschiedenen Reagenzien erzielt wurden.
Es wird deshalb als eine vordringliche Aufgabe angesehen, weiter an der Standardisierung der Methodik und der Reagenzien zu arbeiten.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Bei 364 bzw. 362 Patientenseren wurden der Antistreptolysintiter und der Rheumafaktor mit Reagenzien verschiedener Herkunft bestimmt. Dabei ergaben sich erstaunlich hohe Differenzen der Reaktionsausfälle. Der Aussagewert beider Methoden wird dadurch stark in Frage gestellt.

LITERATUR

1. Böni, A.: Beitrag zur Ätiologie der primär chronischen Polyarthritis
Zschr. Rheumaforsch. 8,43 (1949)

2. Franklin, E.C.: The structur, function and significance, of the immune globulins
Vox. Sang. 7,1 (1962)
Precipitation reaction between rheumatoid factors and gamma globulin
Arthritis Rheumatism 3,314 (1960)

3. Kalbak, K.: Esperimentelle og kliniske undersogelser over O-streptolysin of forekostem af O-Antistreptolysin i-Serum
Kopenhagen 1942; The State Serum Institute Denmark, Kopenhagen 1947
The antistreptolysin reaction. Technique. The State Serum Institute Kopenhagen (1947)
Seroreaktionen bei rheumatischen Krankheiten
Dtsch. med. J. 5,315 (1955)

4. Koller, S.: Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen
2. Auflage, 24 und 32 (1943)

5. Köhler, W.: Die Antistreptolysinreaktion (ASR)
Dtsch. Gesd. wes. 9,992 (1954)
Die Antistreptolysinreaktion in der Differentialdiagnostik rheumatischer Erkrankungen
Zschr. ges. inn. Med. 9,809 (1954)
Der gegenwärtige Stand der Streptokokkenfrage
Zschr. ärztl. Fortb. 52,257 (1958)

Der Antistreptolysin-Normaltiter in NO-Deutschland; Untersuchungen an 600 Personen
Zschr. Immunforsch. 116, 145 (1958)

6. Lagercrantz, R.: Hemolytiska Streptokoker och anti-streptolisiner hos friska
Ref.Zbl.Bakt.I.Ref. 147, 390 (1951)

7. Scheiffarth, F. und Legler, F.: Serologische und klinische Erfahrungen mit der Antistreptolysinreaktion bei acutem und chronischem Gelenkrheuma-tismus
Ärztl. Wschr. 6, 660 (1951)

8. Scheiffarth, F.: Klinische Erfahrungen mit der Anti-streptolysinreaktion bei acutem und chronischem Gelenkrheumatismus
Zschr.f.Rheumaforsch. 10, 173 (1951)

9. Singer, J.M.: The latex fixation test. I. Application to the serologic Diagnosis of rheumatoid arthritis
Amer.J.Med. 21, 888 (1956)
Slide latex fixation test. A simple screening method for the diagnosis of rheumatoid arthritis
J.Amer.Med.Ass. 168, 180 (1958)

10. Waaler, E.: On the occurence of a factor in human serum activatin the specific agglutination of sheep blood corpuscles
Acta.path.microbiol.Scand. 17, 172 (1940)

Literaturnachtrag

1. Hamburger, M.: The failure of Antistreptolysin to protect against streptococcal infection
J.Lab.Clin.Med. 42, 140 (1953)

Herrn Prof. Dr. med. Richard-Ernst Bader möchte ich an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank aussprechen für die freundliche Überlasung dieses experimentellen Themas sowie für die viele Mühe, die er sich bei der Überwachung dieser Arbeit genommen hat.
Gedankt sei ebenfalls allen Mitarbeitern am Hygiene-Institut für ihre stets hilfsbereite Unterstützung.

Lebenslauf

Am 17. März 1933 wurde ich, Stefan Medved, als Sohn des praktischen Arztes Dr. med. Johann Medved und seiner Ehefrau Margit Sefeloge in Budapest geboren. Dort besuchte ich die Grundschule.

Bei Kriegsende wurden wir nach Deutschland verschlagen. Ich besuchte das Hohenstaufen-Gymnasium in Göppingen und legte dort im Jahre 1953 die Reifeprüfung ab.

Das medizinische Studium begann ich an der Universität Tübingen und machte dort das Physikum. Nach einigen Semestern in München kehrte ich nach Tübingen zurück und legte am 27. März 1961 das Medizinische Staatsexamen ab. Seit Mai 1961 bin ich als Medizinalassistent am Hygiene-Institut der Universität Tübingen tätig.

Mit den Arbeiten für die vorliegende Dissertation begann ich im Frühjahr 1962; sie wurde im Februar 1964 abgeschlossen.